

* NOTICES *

JPO and NCIP1 are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed explanation of a design]

[0001]

[Industrial Application]

This design is related with the culture container which a cell is contacted to culture medium and cultivates it.

[0002]

[Description of the Prior Art]

The cell culture container which attached the 1st connection member and the 2nd connection member in the body of a container which piled up two flexible sheets plastic and was formed in saccate as a culture container which a cell is contacted to culture medium and cultivates it is indicated by JP,63-214178,A.

[0003]

[Problem(s) to be Solved by the Device]

By the way, generally the approach of moving to the petri dish and the flask at the gradually big container is performed as it is difficult to collect many target cells from the start, and for this reason culture is begun from the well type petri dish of a cell and a cell increases, when cultivating a living body's cell. For this reason, whenever it required remarkable time and effort and moved the cell solution to the following container, it was put to the risk of microbial contamination.

[0004]

Moreover, since the culture container which has a publication in the above-mentioned official report has a fixed capacity, when the culture container of small capacity is used, when shifting to mass culture, it must be moved to other containers, it requires time and effort, and has a fault, such as being put to the risk of microbial contamination. Moreover, when a mass culture container was used conversely, when there were few cells to cultivate, the cell concentration in a container became thin, several times [usual] as many time amount as this was required by growth, and there was a fault, such as needing the number of cells of a considerable number for the beginning for this reason.

[0005]

This design aims at offering the culture container which the sensitive volume inside a culture container is changed free, and can shift to mass culture easily only by adding culture medium in view of the above-mentioned fault, and can hold axenic.

[0006]

[Means for Solving the Problem]

Although the product made from a gas permeability synthetic-resin twist of the saccate flexibility container used about this design is carried out, 600 - 3000 ml/m² and 24 Hr-atm of oxygen gas are [the permeability] desirable, and 1000 - 30,000 ml/m² and 24 Hr-atm of carbon dioxide gas are desirable.

As synthetic resin, soft polyvinylchloride resin, EVA resin, polyethylene, polypropylene, polybutadiene, 4 fluoridation ethylene, silicone rubber, etc. are mentioned, and the mixture of the vinyl-chloride-resin or vinyl chloride-ethylene copolymer 100 weight section, and the ethylene-1

carbon-monoxide-n-butyl acrylate copolymer (weight ratio 50-80:5- 30:15-60) 100 - the 200 weight sections is desirable.

[0007]

In this design, as for the attachment section, it is desirable to prepare in the periphery section or the joining seal section of a flexible container so that the gas permeability of a flexible container may not be barred.

[0008]

Moreover, as an ingredient used for the attachment section, a double faced adhesive tape, a piece of Velcro (trademark), etc. are mentioned. A double faced adhesive tape is pasted up as it is, and a piece of Velcro is used with a binder, pasting up.

[0009]

Moreover, as for the quality of the material of a tube-like object, it is desirable to consider as the product made of synthetic resin in which a flexible container and welding are possible, and it is desirable to use the same quality of the material as a flexible container.

A tube-like object can be used as a cell, the inlet which pours in culture medium, and output port which takes out the contents after culture. Moreover, mixed injection opening for sampling a lure-type connector or culture medium, or pouring in a drug solution etc. may be prepared so that it may be easy to put in culture medium at the tip of a tube-like object, and you may make it insert the clamp which can intercept passage by press in the middle of a tube-like object.

[0010]

Moreover, as the joining approach of a flexible container, a RF, a supersonic wave, or joining by heat sealing is mentioned. It is good to weld by the RF preferably.

[0011]

Moreover, if the transparent part is prepared at least in one side of a flexible container, since the interior is observable from the exterior, it is desirable.

[0012]

[Function]

In this design, it sticks on the outside surface of at least one side of the saccate flexibility container made of gas permeability synthetic resin mutually. The attachment section which can exfoliate is prepared and at least two tube-like objects are attached in the end section of this flexible container. Each interior of a tube-like object is opened for free passage with the interior of a flexible container, a flexible container is folded up, the folding side is stuck in the attachment section, and a flexible container is substantially divided into the container (in the case of three boxes, they are three containers) which has two or more sensitive volume. After pouring in and cultivating a cell and culture medium to one of the container of this separated substantially, the attachment section of a fold-up field is removed one by one, folding is canceled, the separated containers are connected, the effective area of a container is expanded, and additional impregnation of the required culture medium is carried out at this container.

Thereby, the shift to mass culture is simply attained only by adding culture medium.

[0013]

Moreover, since the shift to mass culture does not need to be attained and it is not necessary to move a cell solution to the following container only with one culture container, axenic is held.

[0014]

[Example] Hereafter, the culture container of this design is explained using a drawing.

Drawing 1 is the perspective view showing one example of the culture container of this design.

1 is a vinyl chloride-ethylene copolymer (the weight ratio 96:4, average degree of polymerization 1300).

It is the flexible container *(ed) with the film (the thickness of 0.15mm, oxygen gas permeability 1680 ml/m² and 24 Hr-atm, carbon-dioxide-gas permeability of 12,430ml/m² and 24 Hr-atm) obtained by carrying out extrusion molding of the constituent which consists of the 100 weight sections and the ethylene-1 carbon-monoxide-n-butyl acrylate copolymer (weight ratio 57:10:33) 160 weight section, and RF joining of the periphery is carried out.

Joining of the tube-like object 2 made of the soft polyvinylchloride resin for pouring in culture

medium and the tube-like object 3 made of the soft polyvinylchloride resin for taking out contents is carried out, and the interior of tube-like objects 2 and 3 is opened for free passage with the interior of the flexible container 1 by the upper limit section 8 which is the end section of the flexible container 1.

The terminal of a tube-like object 3 is heat-sealed and used (you may heat-seal beforehand), when taking out the contents after culture, it opens a needle hole, and it takes out contents. Mixed injection opening for 4 sampling contents liquid in the middle of culture, or pouring in a drug solution and 5 are the clamps which can be intercepted by pushing in the passage of a tube-like object 2.

6 and 7 are the attachment sections prepared each in two places along the periphery of the upper limit section 8 of the flexible container 1, and the lower limit section 9, respectively, and the double faced adhesive tape is stuck on these attachment sections 6 and 7. These attachment sections 6 and 7 may be further formed in the joining seal sections 10 and 11 of a periphery.

[0015]

Next, the operation of this culture container is explained.

Drawing 2 is the perspective view showing an example of the operation of the culture container of this design.

In order to use this culture container, as the releasing paper of the double-sided tape of the attachment section 6 of the attachment section 7 of the lower limit section 9 and the upper limit section 8 is taken first and it is shown in drawing 2, the flexible container 1 is folded up at three boxes, and a fold-up field is stuck by the double faced adhesive tape.

Thereby, the flexible container 1 is divided into three parts, a, b, and c, on parenchyma.

The part of a is first used as a culture container A, and from a tube-like object 2, a cell and culture medium are poured in into Container A, and are cultivated.

Subsequently, the double faced adhesive tape of the attachment section 5 is removed and folded up, and one of the fields is canceled, and a part and b part are carried out on the same flat surface, it is used as a culture container B of the sensitive volume of a+b, culture medium is added to this, and a lot of culture is performed.

Subsequently, the double faced adhesive tape of the attachment section 6 is removed, the last folding side is canceled, it is used as a culture container C of the sensitive volume of a+b+c which made the flexible container 1 one flat surface, and mass culture of the culture medium is added and carried out further.

[0016]

In addition, since the attachment section and an attachment location are changeable into arbitration, they can change the sensitive volume inside a culture container free, and can be made to shift to mass culture simply only by adding culture medium from culture of a small amount with one culture container.

[0017]

Next, the example of use is explained.

The culture medium impregnation tube-like object 2 of the culture container used as three boxes as mentioned above to mouse myeloma cell P3U1 (ATCC CRL 1597; 5×10^6 cells), fetal calf serum (10%) Included culture medium (RPM1 1640; 100ml) It put in and cultivated within the 37-degree C carbon-dioxide-gas incubator. Two days after (number of cells ; 5×10^7 cells) Culture medium which removes the double faced adhesive tape of the upper limit section, opens a flexible container, and contains fetal calf serum (200ml) It added. The double faced adhesive tape of the lower limit section is removed three days after, and it is culture medium. (300ml) It added further, and after cultivating for four days, the needle hole was opened and taken out to the tube-like object 3. The number of cells of the final day is 3.8×10^9 . It was an individual.

[0018]

[Effect of the Device]

Since the attachment section which can stick and exfoliate mutually is prepared in the outside surface of at least one side of the saccate flexibility container made of gas permeability synthetic resin, the culture container of this design can change the sensitive volume inside a

culture container free by folding and attachment, is only actuation of culture medium addition impregnation, and can expand a culture scale easily with one culture container.

[0019]

Moreover, since it can shift to mass culture, it is not necessary to move a cell solution to the following container, axenic is held, and it is not polluted only with one culture container by the microorganism.

[0020]

Moreover, since it is the saccate flexibility container into which sensitive volume is changed free, a cell can be cultivated by the cell concentration suitable for culture.

[Translation done.]

(11) 實用新案出願公開番号

(43)公開日 平成6年(1994)2月22日

B
Z

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全 2 頁)

神奈川県川崎市高津区末長146-1-A-602

1

2

【実用新案登録請求の範囲】

【請求項1】 ガス透過性合成樹脂製の袋状可撓性容器の少なくとも片面の外表面に相互に貼着、剥離可能な貼着部が設けられ、該可撓性容器の一端部に少なくとも二つの筒状体が取付けられ、各筒状体内部は可撓性容器の内部と連通されていることを特徴とする培養容器。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本考案の培養容器の一実施例を示す斜視図である。

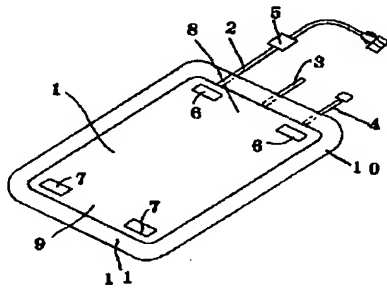
*

*【図2】 本考案の培養容器の使用方法の一例を示す斜視図である。

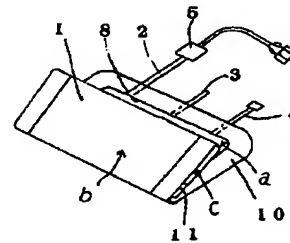
【符号の説明】

- 1 可撓性容器
- 2, 3 筒状体
- 4 混注口
- 6, 7 貼着部
- 8 上端部
- 9 下端部

【図1】



【図2】



【考案の詳細な説明】**【0001】****【産業上の利用分野】**

本考案は、細胞を培養液と接触させて培養する培養容器に関する。

【0002】**【従来の技術】**

細胞を培養液と接触させて培養する培養容器としては、二枚の可撓性プラスチックシートを重ね合わせて袋状に形成した容器本体に、第1の接続部材と第2の接続部材とを取付けた細胞培養容器が特開昭63-214178号公報に開示されている。

【0003】**【考案が解決しようとする課題】**

ところで生体の細胞を培養する場合、始めから目的の細胞を多く集めるのは困難であり、このため、小容器のウェルタイプのシャーレから培養を始め、細胞が増えるに従って、シャーレ、フラスコへと徐々に大きな容器に移していく方法が一般的に行われている。このためかなりの手間を要し、また、細胞溶液を次の容器に移す毎に、微生物汚染の危険に曝されていた。

【0004】

また、上記公報に記載のある培養容器は容量が一定であるため、小容量の培養容器を用いた場合には、大量培養に移行するときに他の容器に移さねばならず、手間を要し、微生物汚染の危険に曝される等の欠点がある。又逆に大容量の培養容器を用いた場合には、培養する細胞数が少ないと容器内の細胞濃度が薄くなり、成長までに通常の数倍の時間を要し、このため当初に相当数の細胞数を必要とする等の欠点があった。

【0005】

本考案は、上記欠点に鑑み、培養容器内部の有効容積が自在に変えられ、培養液を追加するだけで簡単に大量培養に移行することができ、かつ無菌性が保持できる培養容器を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本考案で使用される袋状可撓性容器はガス透過性合成樹脂より製されるが、その透過性は酸素ガスは $600 \sim 3000 \text{ ml/m}^2 \cdot 24 \text{ Hr} \cdot \text{atm}$ が好ましく、炭酸ガスは $1000 \sim 30,000 \text{ ml/m}^2 \cdot 24 \text{ Hr} \cdot \text{atm}$ が好ましい。

合成樹脂としては、軟質塩化ビニル樹脂、エチレン酢酸ビニル樹脂、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリブタジエン、四弗化エチレン、シリコーンゴム等が挙げられ、塩化ビニル樹脂、又は塩化ビニル-エチレン共重合体100重量部とエチレン-酸化炭素-n-ブチルアクリレート共重合体(重量比50~80:5~30:15~60)100~200重量部との混合物が好ましい。

【0007】

本考案において、貼着部は、可撓性容器のガス透過性を妨げないように、可撓性容器の周縁部或いは溶着シール部に設けるのが望ましい。

【0008】

また貼着部に用いる材料としては、両面接着テープ、マジックテープ(登録商標)等が挙げ

られる。両面接着テープはそのまま接着し、マジックテープは粘着剤で接着して使用する。

【0009】

また筒状体の材質は、可撓性容器と溶着可能な合成樹脂製とするのが望ましく、可撓性容器と同一の材質を用いるのが好ましい。

筒状体は、細胞と培養液を注入する注入口、培養後内容物を取り出す取出口として用いることができる。また筒状体の先端に、培養液を入れ易いようにルアー式のコネクター、或いは培養液をサンプリングしたり薬液を注入したりするための混注口などを設けてもよく、筒状体の途中に押圧により流路を遮断することができるクランプ等を挿入するようにしてもよい。

【0010】

また可撓性容器の溶着方法としては、高周波、超音波或いはヒートシールによる溶着等が挙げられる。好ましくは高周波で溶着するのがよい。

【0011】

また可撓性容器の少なくとも片面に透明な部分を設けておけば、外部から内部を観察することができるので望ましい。

【0012】

【作用】

本考案においては、ガス透過性合成樹脂製の袋状可撓性容器の少なくとも片面の外表面に相互に貼着、剥離可能な貼着部が設けられ、該可撓性容器の一端部に少なくとも二つの筒状体が取付けられ、各筒状体内部は可撓性容器の内部と連通されており、可撓性容器は折畳まれ、その折畳み面が貼着部で貼着されて、可撓性容器が複数の有効容積を有する容器（例えば三折りの場合は三個の容器）に実質的に分離される。

この実質的に分離された容器の一つに細胞と培養液とを注入して培養した後、順次折畳み面の貼着部を剥がし折畳みを解消して、分離された容器同士を接続させ、容器の有効面積を拡大し、必要な培養液をこの容器に追加注入する。

これにより、培養液を追加するだけで簡単に大量培養への移行が可能となる。

【0013】

また一つの培養容器のみで、大量培養への移行が可能となり、細胞溶液を次の容器に移す必要がないので、無菌性が保持される。

【0014】

【実施例】

以下、本考案の培養容器を図面を用いて説明する。

図1は本考案の培養容器の一実施例を示す斜視図である。

1は塩化ビニル-エチレン共重合体（重量比96：4、平均重合度1300）100重量部とエチレン-酸化炭素-n-ブチルアクリレート共重合体（重量比57：10：33）160重量部よりなる組成物を押出成形して得られたフィルム（厚み0.15mm、酸素ガス透過性 $1680\text{ml}/\text{m}^2 \cdot 24\text{Hr} \cdot \text{atm}$ 、炭酸ガス透過性 $12,430\text{ml}/\text{m}^2 \cdot 24\text{Hr} \cdot \text{atm}$ ）で製された可撓性容器であり、その周縁は高周波溶着されている。

可撓性容器1の一端部である上端部8には、培養液を注入するための軟質塩化

ビニル樹脂製の筒状体2と、内容物を取り出すための軟質塩化ビニル樹脂製の筒状体3とが溶着され、筒状体2、3の内部は可撓性容器1の内部と連通されている。

筒状体3の端末は溶封して使用し、(予め溶封しておいてもよい)、培養後内容物を取り出すときに針孔をあけ、内容物を取り出す。

4は培養途中に内容液をサンプリングしたり、薬液を注入したりするための混注口、5は筒状体2の流路を押込むことにより遮断することができるクランプである。

6、7はそれぞれ可撓性容器1の上端部8及び下端部9の周縁に沿って各二箇所設けられた貼着部で、この貼着部6、7に両面接着テープが貼着されている。この貼着部6、7はさらに周縁の溶着シール部10、11に設けてもよい。

【0015】

次にこの培養容器の使用方法を説明する。

図2は本考案の培養容器の使用方法の一例を示す斜視図である。

この培養容器を使用するには、先ず下端部9の貼着部7と上端部8の貼着部6の両面テープの剥離紙を取り、図2に示すように、可撓性容器1を三折りに折畳み、折畳み面を両面接着テープで貼着する。

これにより可撓性容器1がa、b、cの三つの部分に実質上分離される。

先ず最初にaの部分を培養容器Aとして使用し、筒状体2から細胞と培養液とを容器A内に注入し、培養する。

次いで貼着部5の両面接着テープを剥がして折畳み面の一つを解消し、a部分とb部分とを同一平面上にしてa+bの有効容積の培養容器Bとして使用し、これに培養液を追加してより大量の培養を行う。

次いで貼着部6の両面接着テープを剥がして最後の折畳み面を解消し、可撓性容器1を一つの平面としたa+b+cの有効容積の培養容器Cとして使用し、さらに培養液を追加して大量培養する。

【0016】

なお貼着部と貼着位置とは任意に変えることができるので、培養容器内部の有効容積を自在に変えることができ、一つの培養容器で少量の培養から培養液を追

加するだけで簡単に大量培養に移行させることができる。

【0017】

次に使用例を説明する。

上記のように三折りにした培養容器の培養液注入筒状体2からマウスミエローマ細胞P3U1 (ATCC CRL 1597 ; 5×10^6 cells)、牛胎児血清 (10%)を含む培養液 (RPMI 1640 ; 100ml)を入れ、37℃の炭酸ガスインキュベータ内で培養した。2日後 (細胞数 ; 5×10^7 cells)に上端部の両面接着テープを剥がして可撓性容器を広げ、牛胎児血清を含む培養液 (200ml)を加えた。3日後に下端部の両面接着テープを剥がし、培養液 (300ml)を更に追加し、4日間培養した後筒状体3に針孔をあけて取出した。最終日の細胞数は 3.8×10^9 個であった。

【0018】

【考案の効果】

本考案の培養容器は、ガス透過性合成樹脂製の袋状可撓性容器の少なくとも片面の外表面に相互に貼着、剥離可能な貼着部が設けられているので、培養容器内部の有効容積を折畳みと貼着とにより自在に変えることができ、培養液追加注入の操作だけで、一つの培養容器で簡単に培養規模を拡大することができる。

【0019】

また一つの培養容器のみで、大量培養に移行することができるので、細胞溶液を次の容器に移す必要がなく、無菌性が保持され、微生物に汚染されることがない。

【0020】

また自在に有効容積が変えられる袋状可撓性容器のため、培養に適した細胞濃度で細胞を培養することができる。